

A búza és a kukorica gyökérfelületi zónájában uralkodó egyes baktériumfajok vitaminszintetizáló képessége

PÁNTOS GYÖRGY

Erdőmérnöki Főiskola Termőhelyismerettni Tanszéke
Sopron

A növények táplálkozásáról alkotott elméletek a földművelés fejlődése folyamán egymástól igen eltérők voltak. Az azonban már régen világossá vált, hogy e kérdés tanulmányozásánál — a növények természetes körülmények közötti termesztése esetén — feltétlenül figyelembe kell venni a talajban élő mikroorganizmusok élettévékenységét.

A talajlakó mikroorganizmusok közül közvetlenül a növények táplálkozására kétségtől legnagyobbat hatással a gyökerek felületén, ill. ezek belsejében élő mikroszervezetek vannak. Ezzel kapcsolatban elég ha utalunk a *Rhizobium* N₂ kötéseire, amelyek a velük szimbiózisban élő pillangósvirágú növények N-szükségletét 60—80%-ban is képesek fedezni (FJODOROV [6]), vagy a mykorrhizagombáknak egyes fásnövények táplálkozásában játszott pozitív szerepére.

De nemcsak az egyes növények gyökereivel szimbiózisban élő mikroorganizmusokról mondható el a növények táplálkozására kedvezően ható élettévékenység. Előző vizsgálataink alapján (PÁNTOS [14, 16]) megállapítható, hogy a búza gyökérfelületi zónájában élő baktériumok igen intenzív ammonifikáló képességgel rendelkeznek, míg az izolált denitrifikáló-baktériumok közül a *Bacterium agile* törzsek szigorú anaerob körülmények között is jelentős mennyiségben képeztek NH₃-nitrogént. Utóbbival magyarázható, hogy steril körülmények között lefolytatott kísérleteinkben ezen mikroszervezetek bűzára gyakorolt káros hatását nem figyeltük meg (PÁNTOS [15]). Egyes vizsgálatok azt bizonyítják (BERJOZOVA [2]), hogy a növények rhizoszférájában igen nagy számban élő denitrifikáló mikroorganizmusok nitrát-redukálása folyamán képződött közbeeső termékeket a növények felveszik. Ennek eredménye a nitrátok növények által történő gazdaságosabb felhasználása.

A rhizoszféra-mikroorganizmusoknak a növények foszfortáplálkozásában végzett szerepe kevésbé kutatott. Azonban már az eddigi vizsgálatok is bizonyítják azt, hogy az egyáltalán nem vagy csak kismértékben felvehető szerves és szervetlen foszforvegyületeket mobilizálva a gyökérfelületen élő mikroszervezetek a növényt felvehető P-forráshoz juttatják.

A felsoroltak alapján teljesen helytállónak mondhatók BERJOZOVA [2] vizsgálati adatai, amelyek szerint közvetlenül a gyökérfelülettel érintkező talajréteg tápanyagtartalma hozzávetőlegesen háromszor több, mint a rhizoszférázónában.

Az utóbbi években bizonyossá vált, hogy igen sok talajmikroorganizmus életműködése folyamán a növény növekedését igen kedvezően befolyásoló ún.

biotikus anyagok — auxinok, különböző vitaminok, aminosavak, valamint antibiotikumok — képződnek.

A mikroorganizmusokat a biotikus anyagok képzése alapján auxoautotrofikokra és auxoheterotrofikokra osztjuk fel. Az első csoportba tartoznak azok, amelyek a normális élettevékenységükhöz szükséges biotikus anyagokat maguk állítják elő, és vitaminmentes szintetikus táptalajon is képesek fejlődni, míg az utóbbiba soroljuk azokat, amelyek fejlődéséhez nélkülözhetetlenek más szervezetek által képzett vagy szintetikus úton nyert biotikus anyagok.

A talajlakó mikroorganizmusok jelentős része az auxoautotrof mikro-szervezetekhez tartozik. Így az eddigi vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a talajban élő baktériumok közül a legenergikusabb vitaminképzéssel azok rendelkeznek, amelyek kemoszintézisre nem képesek ugyan, de valamely szénhidrát tartalmú szintetikus táptalajon jól fejlődnek. Ilyen szempontból a legjelentősebbek az *Azotobacter*-ek, a *Rhizobium*-ok, valamint a *Pseudomonas*- és a *Bacterium*-genusba tartozó egyes fajok. ROBERTS [17] a talajban élő baktériumoknak, sugárgombáknak, valamint gombáknak vizsgálta a heteroauxin-képzését. Megállapította, hogy az izolált 150 törzs közül 99 volt képes erre a szintézisre, miközben legaktívabbnak a baktériumok és sugárgombák bizonyultak. A talajlakó sugárgombák 90—95%-a KRASZILNYIKOV [8, 11] szerint képes a B₁₂-szintézisére, míg a tanulmányozott 192 — a Szovjetunió különböző talajaiból izolált — baktériumtörzs közül több mint 50% képzett B₁-vitamint és csaknem 40% heteroauxint.

A talajban élő mikroorganizmusok közül vannak olyanok is, amelyek nem képesek egy teljes molekula vitamin szintézisére. Pl. egyes mikroszervezetek csak a B₁-vitamin egyik — thiazol — vagy másik — pirimidin — komponensét képzik.

Az egyes biotikus anyagok mennyisége a rhizoszférában lényegesen nagyobb, mint az attól távolabbi talajban. Ebből arra kell következtetnünk, hogy a növények gyökérzónájában élő mikroflóra képviselői nagyobb részben az ún. aktivátorokhoz tartoznak. KRASZILNYIKOV [9, 10] vizsgálatai szerint a gyökérzónával közvetlenül érintkező 100 g talaj 10—15 µg tiamint tartalmazott, míg ugyanilyen mennyiségű gyökértől távoli talaj mindössze 1,5—4 µg-ot.

A növények rhizoszférájában élő baktériumfajok biotikus anyagok szintézisére vonatkozólag kevés adat áll rendelkezésre, jóllehet ismeretes, hogy ezen mikroszervezetek túlnyomó többsége kiválóan fejlődik szintetikus táptalajokon. A rhizoszféra-baktériumok — *Ps. aurantiaca*, *Ps. fluorescens*, *Ps. radiobacter*, *Bacterium herbicola* — vitamin-szintetizáló képességét illetően SAVLOVSKIJ [18, 19] végzett igen beható vizsgálatokat. A felsorolt rhizoszféra-baktériumokat vitaminmentes szintetikus táptalajon nyolc napig tenyésztette, majd megvizsgálta a tiamin, nikotinsav, riboflavin és a biotin mennyiségét mind a baktériumsejtekben, mind a tápszubsztrátumban. A kapott eredményekből megállapítható, hogy a kísérletbe vont baktériumtörzsek egyrészt mind a négy vizsgált vitaminszintézisére képesek, másrészt, hogy még mielőtt az autolízist feltételezhetnénk, ha nem is jelentős mértékben — viszonyítva a baktériumsejtekbe beépült vitaminok mennyiségéhez — a szubsztrátum is tartalmazza ezeket. E vizsgálati eredményeket Thompson adatai is igazolják, aki szerint az auxoautotrof baktériumok nagyobb mennyiségben szintetizálnak vitaminokat, mint amennyit a normális anyagcsereforgalmuk igényel, és a felesleg — kb. 50% — a sejtek elpusztulása nélkül, szekréciós úton a szubsztrátumba távozik.

Természetesen a talajban élő mikroszervezetek vitaminszintézisére csak úgy, mint az anyagcsere bármely más folyamatára sok tényező — így elsősorban a tenyésztés ideje és módja, valamint a táptalaj összetétele — hatással van. Ugyancsak befolyásolják a mikroorganizmusok vitaminképzését kevert kultúrákban az ún. kísérő mikroszervezetek is, amelyek közül egyesek gátolják, míg mások stimulálják e folyamatot.

A biotikus anyagok a talajban egy bizonyos idő után elbomlanak, míg más mikroorganizmusok által újból szintetizálódnak. Így a talajban az egész vegetációs idő alatt ezen vegyületek cseréje szüntelenül folyik.

Tekintettel arra, hogy a rhizoszféra-baktériumoknak a növény növekedésére gyakorolt kedvező hatása bizonyos mértékig éppen az általuk szintetizált biotikus anyagoknak tulajdonítható, kezdtük el a búza és a kukorica gyökérfelületi zónájából izolált uralkodó baktériumfajok vitaminképzésének tanulmányozását.

Kísérleti rész

Vizsgálatunk egyenlőre a B-vitamincsoportba tartozó riboflavinra (B_2), pyridoxinra (B_6), nikotinsavra és a biotinra korlátozódott. Kísérleteinkbe a búza és a kukorica gyökérfelületi zónájában legnagyobb számban előforduló baktériumfajok egyes törzseit vontuk be. Ezek közül a *Pseudomonas pictorum*, a *Ps. grisea* és a *Bacterium candidans* csak a búza, míg a *Ps. radiobacter* és a *Ps. fluorescens* mind a búza, mind a kukorica gyökérfelületi zónájában fellelhető volt. Az izolált törzsek meghatározását morfológiai, kulturális és fiziológiai tulajdonságaik alapján végeztük KRASZILNYIKOV [7] és BERGEY [1] határozója szerint. Az egy fajhoz tartozó törzsek azonosításához felhasználtuk az antigénszerkezet vizsgálatát is.

A vitaminképzést „Bacto”-saccharózt tartalmazó Czapek-féle táptalajon (FJODOROV [5]) vizsgáltuk. A felhasznált vegyszerek vitaminokat — ahogy ezt az ellenőrző vizsgálatok bizonyították — még nyomokban sem tartalmaztak. A baktériumtörzseket 100 ml-es, 25 ml tápoldatot tartalmazó Erlenmeyer-lombikokban inkubáltuk 10 napig 28 °C-on.

A kísérlet kezdetén és végén a baktériumszámot Thoma-kamrában határoztuk meg. A felsorolt vitaminok meghatározása a nemzetközileg általánosan elfogadott mikrobiológiai úton tesztbaktérium-törzsekkel és gombákkal történt (MÜCKE [12], DIFCO [4]). Újabban ODINCOVA [13] erre a célra sikeresen alkalmaz egyes élesztőtörzseket.

A vizsgált vitaminok meghatározásához felhasznált tesztmikroorganizmusok:

Riboflavin	— <i>Lactobacillus casei</i> ATCC 7469.
Pyridoxin	— <i>Neurospora sitophila</i> ATCC 9276.
Nikotinsav	— <i>Lactobacillus arabinosus</i> ATCC 8014.
Biotin	— <i>Lactobacillus arabinosus</i> ATCC 8014.

A *Lactobacillus casei* és a *Lactobacillus arabinosus* törzs fenntartása „Bacto—Micro—Assay Agar”-on történt 14 naponkénti áttöltéssel. Az áttöltés utáni inkubálás 37 °C-on 24 óráig tartott, majd a tenyészeteket 4 °C-on tároltuk. Oltóanyag készítése céljából felhasználás előtt a törzseket 2 naponként

átoltottuk a „Bacto—Micro—Inoculum—Broth” tápoldatra. Az utolsó átoltás után a tenyészeteket centrifugáltuk, dekantáltuk és 0,9%-os steril fiziológiás oldattal háromszor mostuk. Ezután a kapott szuszpenzió 1 ml-ét fiziológiás oldattal 15-szörösére hígítottuk.

A *Neurospora sitophila* törzs fenntartása „Bacto—Neurospora—Culture Agar”-on történt 4 hetenkénti átoltással. Átoltás után az inkubálás 4—5 napig tartott. Ez alatt az idő alatt kifejlődtek a sárgás színtől egészen a sárgászörös tallusz színig a spórák. Oltóanyag készítéséhez a ferde agarrol óvatosan, sterilizált fiziológiás oldattal 50 ml-es Erlenmeyer lombikokba mostuk a spórátermést.

A riboflavin meghatározásához teszt-táptalajként a „Bacto—Riboflavin—Assay Medium”-ot, a pyridoxin meghatározásához a „Bacto—Pyridoxine—Assay Medium”-ot, a nikotinsav meghatározásához a „Bacto—Nicotin—Assay Medium”-ot és a biotin meghatározásához pedig a „Bacto—Biotin—Assay Medium”-ot használtuk fel.

A vizsgálati anyag extrahálása:

a) a riboflavin meghatározásához; A Czapek-féle folyékony táptalajon fejlődött baktériumtenyészetet a táptalajjal együtt n/10 HCl-val háromszorosára hígítottuk, majd autoklávban 120 C°-on 15 percig hidrolizáltuk. Az anyagot azonnal lehűtöttük és pH-ját 4,5-re állítottuk be. 15 perces állás után a folyadékot 60 C°-on vacuum alatt 50 ml-re koncentráltuk, majd redős szűrőn szűrtük. Ezután a folyadék pH-ját 6,8-re állítottuk be.

b) a pyridoxin meghatározásához; A vizsgálandó anyaghoz három rész n/0,44 H₂SO₄-at adtunk, majd autoklávban 120 C°-on 2 órán keresztül hidrolizáltuk. Azonnali lehűtés után az anyag pH-ját 4,5-re állítottuk be. Az 50 ml-re koncentrált folyadékot szűrtük, majd 4,8-es pH-ra állítottuk be.

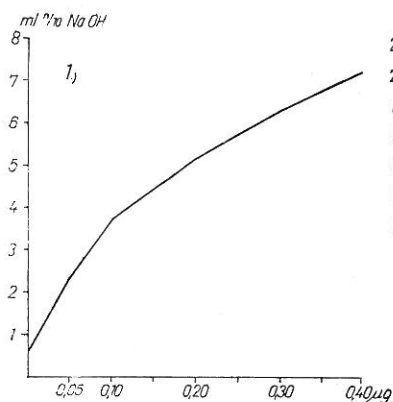
c) a nikotinsav meghatározásához és

d) a biotin meghatározásához; A vizsgálandó anyaghoz három rész n H₂SO₄-at adtunk, majd az autoklávban 120 C°-on 30 percig hidrolizáltuk. Azonnali lehűtés után az anyag pH-ját 4,5-re állítottuk be. Az 50 ml-re koncentrált folyadékot szűrtük, majd a szűrletet 6,8-es pH-ra állítottuk be.

A B-csoportozhoz tartozó vitaminok meghatározásánál mutakozó legnagyobb hibaforrás a vizsgálati anyag előkészítéséből adódhat. Mivel a baktériumok vitaminszintézisével kapcsolatos vizsgálatok ezt legtöbbször nem, vagy csak hiányosan közlik, másrészt, mert erre vonatkozólag nekünk is bizonyos modifikációkat kellett végeznünk, elsősorban az anyag hígítására, majd koncentrálására vonatkozólag, szükségesnek tartottuk az alkalmazott módszer rövid leírását.

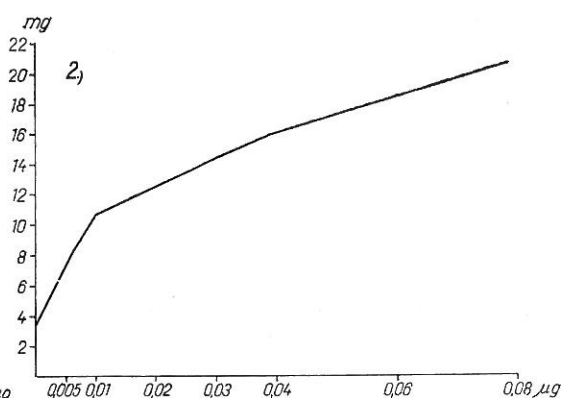
A riboflavin, nikotinsav és biotin meghatározása megegyezik. E célból a kétszeres koncentrációjú teszt-táptalajból minden kémcsőbe, amelyek üveg-sapkával ellátottak voltak, 4 ml-t, a standardoldatból, az extractumból és hideszt, vízből pedig az 1. táblázatban feltüntetett mennyiségeket adagoltuk. Minden vizsgálatot háromszoros ismétlésben végeztünk. A kémcsövek sterilizálása 121 C°-on 10 percig történt, amit gyors lehűtés követett. A vizsgálati anyag beoltásához az oltóanyag 1 cseppjét használtuk fel steril pipetta segítségével. A 37 C°-on való 72 órás inkubálás után a tenyészeteket n/10 NaOH-dal titrizskóp segítségével titráltuk. A standardoldat titrálni eredményeit grafikusan ábrázoltuk (1., 3. és 4. ábra), és ezek alapján számítottuk ki vizsgált a vitamin mennyiségét.

A pyridoxin meghatározásához a kémcsövekbe ugyancsak az 1. táblázatban feltüntetett mennyiségeket adagoltuk. A beoltás 1 csepp spóra-szuszpenzióval történt. A kémcsöveket ezután megfelelő állványokon kiferdítettük az aeráció jobbá tétele végett, és így helyeztük a 30 C°-os termosztátba. 72 órás inkubálás után a kifejlődött myceliumokat üvegkaccsal óvatosan leszedték, lemostuk és 100 C°-on 2 óráig szárítottuk. A kiszáritott myceliumok súlyát analitikai mérlegen lemértük, és a standardoldaton kapott mérési eredményeket szintén grafikusán ábrázoltuk. Ennek alapján történt a pyridoxin mennyiségének meghatározása (2. ábra).



1. ábra

A nikotinsav standard görbéje



2. ábra

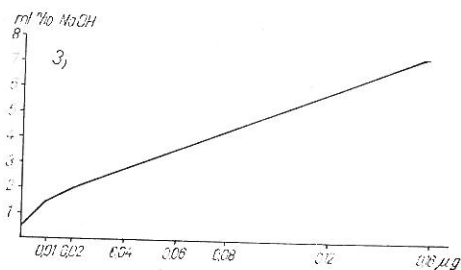
A pyridoxin standard görbéje.
Függőleges tengely a micélium súlya

A tenyészetek baktériumszámát és a vizsgált vitaminok mennyiségét a 2. táblázatban foglaltuk össze, amely a kétszeres ismételtes középértékeit tünteti fel. A kísérletbe vont baktériumfajok a vizsgált vitaminok közül nem mindegyiket képezték egyforma intenzitással. Az egyes törzsek vitamin-szintetizáló képességét összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a *Pseudomonas pictorum* általában gyenge vitamin-szintetizáló képességgel rendelkezik. Csupán a nikotinsav képzése jelentős (2,16 μg). A *Pseudomonas chrysea*-nál szintén a nikotinsav produkciója a legnagyobb (2,30 μg). Egészen eltérő a *Bacterium (andicans)* vitamin-szintetizáló képessége. Ugyanis e törzs pyridoxin-képzés tekintetében az összes többit megelőzte (1,02 μg), míg a többi vitamint csak jelentéktelen mennyiségben képezte. A *Pseudomonas radiobacter* riboflavin (1,83 μg) és biotin (3,13 μg) képzésben múlja felül a többi vizsgált baktériumtörzset. A *Pseudomonas fluorescens* mind a nikotinsav (4,89 μg), mind a biotin (3,31 μg) szintetizáló képesség szempontjából az első helyen áll. Ezenkívül jelentős a riboflavin és pyridoxin termelése is, és így a vizsgált törzsek közül a legsokoldalúbb vitaminképzőnek bizonyult. A kapott eredmények is azt bizonyítják, hogy az egyes auxoautotrof baktériumfajok, bár vitaminszükségletük szempontjából önellátók, azonban normális anyagszerefoolyamataikhoz azonos tenyésztési körülmények között igen eltérő mennyiségben igénylik ezeket a biotikus anyagokat.

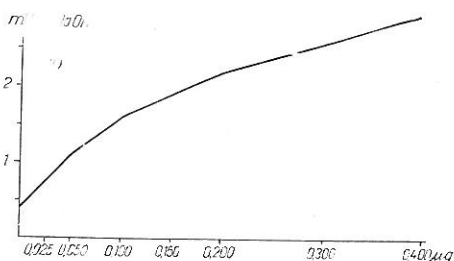
A vitaminszintézist illetően, mennyiségi összehasonlításra kevés lehetőségünk van, elsősorban a tenyésztési körülmények és a vizsgálati metodika eltérő volta miatt. Mégis eredményünket összehasonlítva a szórványos irodalmi adatokkal, azt kell mondanunk, hogy a vitaminszintézist illetően különbségek mutatkoznak az egy fajhoz tartozó különböző törzsek között is.

Végül a táblázat adataiból kitűnik az is, hogy a baktériumszám és a szintetizált vitaminok mennyisége között összefüggés nincs.

Arra vonatkozólag, hogy a rhizoszféra-mikroorganizmusok által szintetizált vitaminokra az egyes növények hogyan reagálnak, ezeket milyen mértékben igénylik és veszik fel, csak az utóbbi években — részben jelzett vegyületekkel — lefolytatott vizsgálatok adnak betekintést.



3. ábra
A riboflavin standard görbéje



4. ábra
A biotin standard görbéje

A magasabbrendű zöldnövények az auxoautotrof szervezetekhez tartoznak. Azonban egyes esetekben nem megfelelő életkörülmények között a növények saját vitaminszükségletüket fedezni nem képesek, és az avitaminózis különböző fiziológiai zavarokat von maga után.

Az egyes növények talajból történő vitaminhasznosítására vonatkozólag sok kísérleti adat áll rendelkezésre, amelyeket különböző biotikus anyagokkal steril és nem steril laboratóriumi és szabadföldi viszonyok között folytattak le. E vizsgálatok azt bizonyítják, hogy a növények különbözőképpen reagálnak a szubsztrátumba adagolt vitaminokra. Vannak olyanok, amelyeknél ezek a vegyületek a növekedés hirtelen gyorsulását idézik elő, míg másoknál ez csak gyengén vagy egyáltalán nem jelentkezik. Ebből arra lehet következtetni, hogy az első esetben a növények bizonyos vitaminokat csupán minimumban képeznek.

A növények vitaminhasznosítását igen sikeresen határozták meg egyes izolált szövetekkel és különösen izolált gyökerekkel végzett kísérletekben. Ugyanis sok növény gyökere biotikus anyagokat és megfelelő C-forrást nem tartalmazó szintetikus táptalajokon nem fejlődik. E vizsgálatok azt igazolják, hogy a különböző növények gyökerei eltérő biotikus anyagokat igényelnek. Így a len gyökere B_1 , a borsó, lucerna, here, gyapot gyökere B_1 és B_6 , a paradicsom, napraforgó gyökere pedig B_1 , B_6 , valamint pantothensav jelenlétében mutatott fejlődést (KRASZILNYIKOV [11]). Hasonlóan a mikroorganizmusokhoz, a magasabbrendű növények között is vannak olyanok, amelyek egyes összetett vegyületekből álló vitaminoknak — az alkotó komponensek felvétele után — a szintézisére képesek. Pl. egyes borsófajták thiamin szintézisének tapasztalható ez. Viszont egyes paradicsomfajták, amennyiben a thiazol a szub-

sztrátumban rendelkezésre áll, a pyrimidint maguk is előállítják és a két komponenst thiaminná egyesítik (Doby [3]). A vitaminok pozitív hatását számos növény magjának csírázásánál is megfigyelték.

Korábbi kísérleteimnél beigazolódott, hogy a búza gyökérfelületi zónájából izolált auxoautotrof baktériumok — így elsősorban a *Pseudomonas radiobacter* — a növény szárazanyag-képzését jelentősen növelik. E vizsgálatokat homokkultúrák monobakteriális kísérletekben nem steril és steril körülmények között végeztük. A búza szárazanyag-felhalmozódása a magvak vetése előtt

1. táblázat

A vitaminok meghatározásához felhasznált kiindulási anyagok összetétele

(1) A kémcsövek tartalmának összetétele	(2) Az ellenőrző vizsgálatához használt kémcsövek sorszáma							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
a) Teszt-medium ml-ekben	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
b) standard-oldat ml-ekben	—	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	3,00	4,00
c) riboflavin-tartalom μg -okban	—	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,12	0,16
d) pyridoxin-tartalom μg -okban	—	0,005	0,01	0,02	0,03	0,04	0,06	0,08
e) nikotinsav-tartalom μg -okban	—	*	0,05	0,10	*	0,20	0,30	0,40
f) biotin-tartalom μg -okban	—	0,025	0,05	0,10	0,15	0,20	0,30	0,40
g) aqua bideszt. ml-ekben	4,00	3,75	3,50	3,00	2,50	2,00	1,00	—

	(3) A tenyészetek vizsgálatához használt kémcsövek sorszáma							
	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	
a) teszt-medium ml-ekben	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	
g) aqua bideszt. ml-ekben	3,75	3,50	3,00	2,50	2,00	1,00	—	
h) teszt-extraktum ml-ekben	0,25*	0,50	1,00	1,50*	2,00	3,00	4,00	

* A nikotinsav meghatározásánál a *-gal jelölt mennyiségek a vizsgálat pontosságát nem befolyásolják, és ezért szükségtelenek.

— *Pseudomonas radiobacter* vizes szuszpenziójával történő kezelés után ötszörös ismétlés átlagában — 25,92%-kal volt nagyobb, mint a kontrollcédényekben (Pántos [14, 15]). Már a kísérletekből is következtetni lehetett arra, hogy a *Pseudomonas radiobacter*nek a búza szárazanyag-felhalmozódására gyakorolt kedvező hatása e mikroszervezet által szintetizált biotikus anyagok következménye. Jelen kísérletünkben valóban sikerült megállapítani, hogy a kísérletbe vont többi, részben a búza, részben a kukorica gyökérfelületi zónájából izolált baktériumokkal együtt a *Pseudomonas radiobacter* viszonylag jelentős mennyiségben szintetizálja az általunk vizsgált vitaminokat.

Jelenleg már olyan vizsgálati adatok is rendelkezésre állnak — részben radioaktív vitaminokkal végzett kísérletek alapján —, amelyek azt bizonyítják, hogy a növények a rhizoszféra-mikroorganizmusok által szintetizált vitaminokat gyökerükön keresztül a tápközegből képesek felvenni és hasznosítani (Savlovskij [19]).

A vitaminoknak a növények életében betöltött szerepe ma még csak részben ismeretes. Annyi azonban bizonyos, hogy mint biokatalizátorok nél-

2. táblázat

A kísérletbe vont baktériumfajok vitamintermelése 25 ml tápoldatban

(1) A baktériumok		(2) Baktéri- umszám milliók- ban a kísérlet kezdetén	(3) A vizsgált vitaminok							
törzsszáma	megnevezése		riboflavin		pyridoxin		nikotinsav		biotin	
			mennyi- sége µg	baktéri- umszám milliók- ban a kísérlet végén	mennyi- sége µg	baktéri- umszám milliók- ban a kísérlet végén	meny- nyisége µg	baktéri- umszám milliók- ban a kísérlet végén	mennyi- sége µg	baktéri- umszám milliók- ban a kísérlet végén
B-7/b	<i>Pseudomonas pictorum</i>	0,780	0,036	24 700	*	26 200	2,16	24 000	0,297	24 500
B-2/a	<i>Pseudomonas chrysea</i>	0,620	0,135	33 800	0,025	33 000	2,30	34 400	0,467	33 000
B-10/b	<i>Bacterium candicans</i>	1,100	0,080	1 000	1,022	980	0,18	1 400	0,092	1 300
K-1/a	<i>Pseudomonas radiobacter</i>	1,320	1,828	78 200	0,050	77 000	1,71	81 600	3,125	83 000
K-2/a	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,940	0,776	20 800	0,211	21 200	4,89	21 600	3,313	22 000

* Vizsgálati adat nem áll rendelkezésünkre.

különbözhetlenek a növények életének normális működéséhez csakúgy, mint ahogy ez az emberi vagy az állati szervezetben tapasztalható.

Végül szükséges megjegyezni, hogy az auxoautotrof baktériumok vitamin szintézisének intenzitása — éppen úgy, mint az anyagcserefolyamatának bármely más láncszeme — a környezeti tényezőktől, a tenyésztési eljárásoktól igen nagymértékben függ. Ezért a laboratóriumi körülmények között kapott eredmények csak viszonylagosak, és nem mindenben azonosíthatók a természetes viszonyok melletti adatokkal.

Összefoglalás

Vizsgálataink bebizonyították, hogy a búza és a kukorica gyökérfelületi zónájában igen nagy számban jelenlevő egyes auxoautotrof baktériumfajok — *Pseudomonas pictorum*, *Pseudomonas chrysea*, *Pseudomonas radiobacter*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacterium candicans* — viszonylag jelentős mennyiségben szintetizálják a B-vitamincsoportba tartozó riboflavint, pyridoxint, nikotinsavat és biotint. A vizsgált vitaminok mennyisége a *Pseudomonas fluorescens* és a *Pseudomonas radiobacter*nél volt a legnagyobb.

Érkezett : 1961. március 15.

Irodalom

- [1] BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore. 1957
- [2] BERJOZOVA, E. F.: Vzaimosvjaz rasztenij sz mikrofloroj ih kornevoj szisztémü. Dosztizsenyija micsurinszkoj nauki v mikrobiologii. Szelyhozgiz. Moszkva. 1958.
- [3] DOBY, G.: Növényi biokémia. Akadémiai Kiadó. Budapest. 1959.
- [4] DIFCO Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures. Difco Laboratories. Detroit. 1953.
- [5] FJODOROV, M. V.: Mikrobiológiai gyakorlatok. Mezőgazd. Kiadó. Budapest. 1952.
- [6] FJODOROV, M. V.: Pocsvennaja mikrobiologija. Szovjetszkaja nauka. Moszkva. 1954.
- [7] KRASZILNYIKOV, N. A.: Opredeliteli bakterij i aktinomicetov. Izdatelystvo Akademii Nauk SSSR. Moszkva—Leningrad. 1949.
- [8] KRASZILNYIKOV, N. A.: Obrazovanie i nakoplenie antibioticeszkih vesesesztv v pocsv. DAN SSSR. **94**. 5. 1954.
- [9] KRASZILNYIKOV, N. A.: Vlijanie pocsvennih bakterij na roszt psenicü. Mikrobiologija **8**. 5. 523. 1939.
- [10] KRASZILNYIKOV, N. A.: Mikroorganizmü i plodorodie pocsv. Izv. Akademii Nauk SSSR, szerija biologiceszkaja. **2**. 14. 1954.
- [11] KRASZILNYIKOV, N. A.: Mikroorganizmü pocsvü i vüszsie rasztenija. Izdatelystvo Akademii Nauk SSSR. Moszkva. 1958.
- [12] MÜCKE, D.: Einführung in mikrobiologische Bestimmungsverfahren. G. Thieme. Leipzig. 1955.
- [13] ODINCOVA, E. N.: Mikrobiologiceszkije metodü opredelenija vitaminov. Izdatelystvo Akademii Nauk SSSR. Moszkva. 1959.
- [14] PÁNTOS, Gy.: A búza rhizoszféra-baktériumainak főformái, fiziológiai tulajdonságai és kölcsönös kapcsolatai a növényel. Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Osztályának Közleményei. **9**. 315—343. 1956.
- [15] PÁNTOS, Gy.: A búza rhizoszféra-baktériumainak hatása a növényre monobaktériális körülmények között. Agrokémia és Talajtan. **5**. 351—358. 1956.
- [16] PÁNTOSNÉ DERIMOVA TATJÁNA & PÁNTOS, Gy.: „Ureaform” készítmények mineralizálódása a kukorica gyökérzónájából izolált baktériumok hatására. Agrokémia és Talajtan. **8**. 313—320. 1959.
- [17] ROBERTS, I. & ROBERTS, E.: Auxin production by soil microorganisms. Soil Science. **48**. 135. 1939.
- [18] SAVLOVSKIJ, G. M.: Ucsasztie mikroorganizmov rizoszferü v sznabzszenii rasztenij vitaminami. DAN SSSR. **95**. 5. 1954.
- [19] SAVLOVSKIJ, G. M.: Roly mikroorganizmov rizoszferü v vitaminom i aminokiszlottom pitanii rasztenij. Szb. Izotopü v mikrobiologii. 186. 1955.

ВИТАМИНСИНТЕЗИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВЕДУЩИХ ФОРМ БАКТЕРИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ КОРНЕВОЙ ЗОНЫ ПШЕНИЦЫ И КУКУРУЗЫ

Д. Пантош

Кафедра Почвоведения и Почвенной Микробиологии, Шопрон Венгрия

Резюме

Благоприятное влияние ризосферных бактерий на растение заключается в синтезации ими биологических веществ. В связи с этим занимались витаминсинтезирующей способностью ризосферных бактерий, изолированных из корневой зоны пшеницы и кукурузы.

В опытах изучались отдельные штаммы бактерий, встречающихся в самом большом количестве в корневой зоне пшеницы и кукурузы. Среди этих *Pseudomonas pictorum*, *Pseudomonas chrysea* и *Bacterium candidans*, представленные только в корневой зоне пшеницы, а *Pseudomonas radiobacter* и *Pseudomonas fluorescens* и в корневой зоне

пшеницы, и в корневой зоне кукурузы. Определение штаммов изолированных бактерий проводилось по морфологическим, культуральным, биологическим признакам, а также антигенной структуре. К идентификации использовались определители *Красильникова* и *Бербежа*.

Определение проводилось пока по витаминам, относящимся к группе В, а именно: *рибофлавин* (B_2), *пиридоксин* (B_6), *никотиновая кислота* и *биотин*.

Витаминсинтезирующая способность, использованных нами бактерий, изучалась на питательной среде Чапека, содержащей «*Bacto*» — сахарозу. Инкубация бактериальных штаммов велась в эрленмейерских колбах емкостью 100 мл, содержащих 25 мл питательной среды, в течение 10 дней, при 28° С. В начале и в конце опыта число бактерий определяли в камере *Тома*.

Определение упомянутых витаминов велось микробиологическим путем с помощью тест-бактериальных и грибных штаммов общепринятым интернациональным методом на определенных питательных средах «*Bacto*» с использованием следующих микроорганизмов:

Рибофлавин — *Lactobacillus casei* ATCC 7469.

Пиридоксин — *Neurospora sitophila* ATCC 9276.

Никотиновая кислота — *Lactobacillus arabinosus* ATCC 8014.

Биотин — *Lactobacillus arabinosus* ATCC 8014.

Выделение витамина изучаемого материала подробно описано в статье.

Бактериальные виды, включенные в опыты, не в одинаковой степени синтезировали изучаемые нами витамины. Сравнивая витаминсинтезирующую способность отдельных видов бактерий, можно видеть что у *Pseudomonas pictorum* слабо выражена эта способность. Только продукция *никотиновой кислоты* значительна (2,16 μg). У *Pseudomonas chrysea* также синтез *никотиновой кислоты* самая высокая (2,30 μg). Совсем иная витаминсинтезирующая способность у *Bacterium candicans*, этот штамм по образованию *пиридоксина* превосходит остальные изучаемые культуры (1,02 μg), а продукция других витаминов у него незначительна. У *Pseudomonas radiobacter* синтез *рибофлавина* (1,83 μg) и *биотина* (3,13 μg) превосходит остальные штаммы. *Pseudomonas fluorescens* стоит на первом месте по витаминсинтезирующей способности *никотиновой кислоты* (4,89 μg) и *биотина* (3,31 μg). Кроме того у этого штамма образование *рибофлавина* и *пиридоксина* также значительно. И так, у *Pseudomonas fluorescens* самая разнообразная витаминсинтезирующая способность по сравнению с другими изучаемыми микроорганизмами.

Полученные нами результаты свидетельствуют также о том, что, хотя отдельные виды аукоаутотрофных бактерий самообеспечивают потребность в витаминах, однако в нормальных условиях обмена веществ, в одинаковых условиях культивирования в разнообразном количестве продуцируют эти биотические вещества.

Количественное сравнение витаминсинтезирующей способности с данными других авторов в малой степени вероятно, в первую очередь за счет разных условий культивации испытываемых бактериальных штаммов и разнообразия методики определения витаминов. Однако, наши результаты по сравнению с другими литературными данными, находящиеся в малом количестве, говорят о том, что витаминсинтезирующая способность у разных штаммов, относящихся к отдельным бактериальным видам, разнообразна.

Наконец, данные, представленные в таблице, показывают, что между числом бактерий и витаминсинтезирующей способностью отдельных бактериальных штаммов, включенных в наши опыты, никакого сравнения нет.

Рис. 1. Стандартная кривая *никотиновой кислоты*.

Рис. 2. Стандартная кривая *пиридоксина*. На ординате вес грибного мицелия.

Рис. 3. Стандартная кривая *рибофлавина*.

Рис. 4. Стандартная кривая *биотина*.

Таблица 1. Состав исходного материала, использованного для определения витаминов. (1) Состав содержания пробирок. (2) Номер пробирок, использованных для контроля. (3) Номер пробирок, использованных для изучения витаминов, образованных нашими культурами. а) тест-медиум в мл, б) стандартный раствор в мл, с) содержание *рибофлавина* в μg , d) содержание *пиридоксина* в μg , е) содержание *никотиновой кислоты* в μg , f) содержание *биотина* в μg , g) бидистиллированная вода в мл, h) тестэкстракт в мл.

Таблица 2. Витаминсинтезирующая способность исследуемых бактериальных видов в 25 мл питательной среды. (1) Номер и название бактериальных штаммов. (2) Число бактерий в начале опыта в миллионах. (3) Содержание исследуемых витаминов в μg и число бактерий в конце опыта в миллионах.

On the Vitamin Production of Some Dominant Strains of Rhizosphere Bacteria of the Root Surface of Wheat and Maize Plants

G. PÁNTOS

Department of Plant Ecology, College of Forestry, Sopron

Summary

Since in the plant growth stimulation by rhizosphere bacteria biotic substances, produced by the latter, are certainly involved, it seemed to us that a study of the vitamin production of some rhizosphere bacteria might yield useful information.

The strains of bacteria studied were those most frequently occurring in the rhizosphere of wheat and maize plants. Of these bacterium species *Pseudomonas pictorum*, *Pseudomonas chrysea* and *Bacterium candicans* were only found in wheat rhizosphere, while *Pseudomonas radiobacter* and *Pseudomonas fluorescens* were frequently isolated from maize rhizosphere as well. Identification of the isolates was carried out as described in the manuals of Krasilnikov and of Bergey, taking into consideration morphological characters, cultural behaviour and even some physiological reactions.

In our first studies described in this paper we have only dealt with the production of riboflavine, pyridoxine, nicotinic acid and biotin, all belonging to the vitamin B group.

Czapek-nutrient was always used, supplemented with "Bacto"-saccharose. Incubation was carried out for 10 days at 28° C in 100 ml. Erlenmeyer flasks which contained 25 ml. of the nutrient solution. Bacterium number was determined in a Thoma-chamber at inoculation and at the termination of the experiments. For the vitamin determination the standard microbiological tests were applied. The following test organisms were cultivated on the prescribed "Bacto"-nutrients:

Lactobacillus casei ATCC 7469 — riboflavine
Neurospora sitophila ATCC 9276 — pyridoxine
Lactobacillus arabinosus ATCC 8014 — nicotinic acid
Lactobacillus arabinosus ATCC 8014 — biotin

Detailed description of the procedure used for the extraction of vitamin is found in the text.

The above vitamins were synthesized with different intensities by the rhizosphere organisms studied. A comparison of the vitamin production of the latter shows that *Pseudomonas pictorum* is characterized by a generally low synthetic level, except with respect nicotinic acid, which is produced in a remarkable quantity (2.16 g.).

Pseudomonas chrysea also produced nicotinic acid in the highest quantity (2.30 g.). On the other hand, the pattern of vitamin synthesis by *Bacterium candicans* is quite different, its pyridoxine production was outstandingly high (1.02 g.), while it produced the other vitamins only in negligible quantities. Riboflavine and biotin were produced in the greatest quantities (1.83 μg . and 3.12 μg . resp.) by *Pseudomonas radiobacter*. The greatest amounts of nicotinic acid (4.89 μg .) and biotin (3.31 μg .) were produced by *Pseudomonas fluorescens*. Since the riboflavine and pyridoxine production of the latter organism was also remarkable, it can be concluded that the general ability to synthesize vitamins is the highest in *Ps. fluorescens*. In brief, the auxotrophic bacteria studied, though self-supporting in respect of their vitamin requirements, produce widely different amounts of vitamins to sustain their normal metabolic processes under identical cultural conditions.

A quantitative comparison of our results to those obtained in other laboratories is somewhat problematic, due to differences in cultural conditions and in analytical methods. Nevertheless, it is suggested that there are remarkable differences in respect to vitamin production among different strains of the same bacterium species.

Finally, no correlation was found between bacterium number and vitamin production (Table 2).

Table 1. Survey of the microbiological test methods used for vitamin determination. (1) Composition of the test solution. (2) Protocol number of the test tubes used for control measurements. (3) Protocol number of the test tubes used for experimental determinations. — *a)* test-solution, ml; *b)* standard solution, ml; *c)* riboflavine content, $\mu\text{g.}$; *d)* pyridoxine content, $\mu\text{g.}$; *e)* nicotinic acid content, $\mu\text{g.}$; *f)* biotin content, $\mu\text{g.}$; *g)* distilled water, ml.; *g)* test-extract, ml.

Table 2. Vitamin production by the bacteria studied. (1) Species, and strain number. (2) Bacterium number per 25 ml. at inoculation. (3) $\mu\text{g.}$ vitamin found, and bacterium number at the end of the 10-day incubation period (per 25 ml.).

Fig. 1. The standard curve for nicotinic acid.

Fig. 2. The standard curve for pyridoxine.

Fig. 3. The standard curve for riboflavine.

Fig. 4. The standard curve for biotin. (Abscisses in Figs. 1 to 4: vitamin concentration, $\mu\text{g.}/25\text{ ml.}$; ordinates: mycelium weight, $\text{mg.}/\text{test tube.}$